

Rec'd PCT/PTO 04 OCT 2005

BEST AVAILABLE COPY

PCT/JP 2004/005057

10/552115  
08.4.2004

日 本 国 特 許 庁  
JAPAN PATENT OFFICE

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日  
Date of Application: 2003年 5月30日

出 願 番 号  
Application Number: 特願2003-154735  
[ST. 10/C]: [JP2003-154735]

出 願 人  
Applicant(s): オリンパス株式会社

REC'D 03 JUN 2004

WIPO

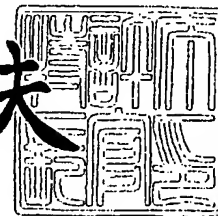
PCT

PRIORITY DOCUMENT  
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
COMPLIANCE WITH  
RULE 17.1(a) OR (b)

2004年 5月21日

特許庁長官  
Commissioner,  
Japan Patent Office

今井康夫



出証番号 出証特2004-3042665

【書類名】 特許願

【整理番号】 03P00969

【提出日】 平成15年 5月30日

【あて先】 特許庁長官 殿

【国際特許分類】 C12M 1/00

【発明の名称】 培養処理装置および自動培養装置

【請求項の数】 8

【発明者】

    【住所又は居所】 東京都渋谷区幡ヶ谷 2丁目43番2号 オリジナル光学  
工業株式会社内

    【氏名】 木下 智之

【発明者】

    【住所又は居所】 東京都渋谷区幡ヶ谷 2丁目43番2号 オリジナル光学  
工業株式会社内

    【氏名】 福田 宏

【発明者】

    【住所又は居所】 東京都渋谷区幡ヶ谷 2丁目43番2号 オリジナル光学  
工業株式会社内

    【氏名】 中村 賢史

【発明者】

    【住所又は居所】 東京都渋谷区幡ヶ谷 2丁目43番2号 オリジナル光学  
工業株式会社内

    【氏名】 日比野 浩樹

【特許出願人】

    【識別番号】 000000376

    【氏名又は名称】 オリジナル光学工業株式会社

## 【代理人】

【識別番号】 100106909

【弁理士】

【氏名又は名称】 棚井 澄雄

## 【代理人】

【識別番号】 100064908

【弁理士】

【氏名又は名称】 志賀 正武

## 【選任した代理人】

【識別番号】 100101465

【弁理士】

【氏名又は名称】 青山 正和

## 【選任した代理人】

【識別番号】 100094400

【弁理士】

【氏名又は名称】 鈴木 三義

## 【選任した代理人】

【識別番号】 100086379

【弁理士】

【氏名又は名称】 高柴 忠夫

## 【選任した代理人】

【識別番号】 100118913

【弁理士】

【氏名又は名称】 上田 邦生

## 【手数料の表示】

【予納台帳番号】 008707

【納付金額】 21,000円

## 【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【包括委任状番号】 0207288

【ブルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 培養処理装置および自動培養装置

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 外部から区画された空間内において、開閉可能な培養容器内に収容された細胞に対し所定の処理を施す処理部を備え、

前記空間に、該空間内の清浄度を測定する清浄度センサが配置され、

該清浄度センサにより測定された清浄度が所定の清浄度を満たしていない場合に、前記空間内における前記培養容器の開放を禁止するよう前記処理部を制御する制御手段を備える培養処理装置。

【請求項 2】 外部から区画された空間内において、開閉可能な培養容器内に収容された細胞に対し所定の処理を施す処理部を備え、

前記空間に、該空間内の清浄度を測定する清浄度センサが配置され、

前記培養容器が開放されている状態で、前記清浄度センサにより測定された清浄度が所定の清浄度を満たしていない場合に、前記培養容器を閉鎖するよう前記処理部を制御する制御手段を備える培養処理装置。

【請求項 3】 前記清浄度センサにより測定された清浄度が所定の清浄度を満たしていない場合に、これを報知する報知手段を備える請求項 1 または請求項 2 に記載の培養処理装置。

【請求項 4】 前記清浄度センサが、前記空間内に間隔をあけて複数配置されている請求項 1 から請求項 3 のいずれかに記載の培養処理装置。

【請求項 5】 前記清浄度センサが、前記培養容器の通過する位置近傍に配置されている請求項 1 から請求項 4 のいずれかに記載の培養処理装置。

【請求項 6】 前記清浄度センサが、前記培養容器を搭載する載置台に配置されている請求項 5 に記載の培養処理装置。

【請求項 7】 前記清浄度センサにより測定された清浄度を表示する表示手段を備える請求項 1 から請求項 6 のいずれかに記載の培養処理装置。

【請求項 8】 請求項 1 から請求項 7 のいずれかに記載の培養処理装置と、細胞を収容した培養容器を出し入れ可能に収容し、所定の培養条件を維持しつつ細胞を培養する培養室と、これらの間で培養容器を搬送する搬送機構とを備える

自動培養装置。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

この発明は、培養処理装置および自動培養装置に関するものである。

【0002】

【従来の技術】

従来の自動培養装置としては、複数の培養容器を収納可能な固定式の収納棚と、水平・昇降・回転移動可能な搬送手段とを備えたものが知られている（例えば、特許文献1参照。）。

この自動培養装置においては、搬送ロボットにより培養容器をインキュベータから外部に取り出した後に、リッドオープンロボットにより培養容器の蓋を外し、培地交換ロボットにより培養容器内の培地の排出および注入を行うようになっている。そして、培地交換終了後には、再度リッドオープンロボットにより培養容器の蓋が被せられ、培養容器が搬送ロボットによりインキュベータ内のスタッカに收容されるようになっている。

【0003】

【特許文献1】

特開2002-262856号公報（図1等）

【0004】

【発明が解決しようとする課題】

上記特許文献1に記載された自動培養装置においては、培養容器を収納しているスタッカ内は、温度、湿度および二酸化炭素濃度等の培養条件が一定に保たれるように管理されている。しかし、培養容器の蓋を外したり、開放された状態の培養容器に対して培地交換等の種々の処理を行ったりする空間は、スタッカ外部に配されている。培養容器内の細胞に対して処理が行われる空間には、ロボットや搬送コンベア等の種々の機械装置が配置されている。

【0005】

したがって、この空間内は、塵埃が浮遊し易い環境となっており、何らかの手

段によって、浮遊する塵埃を低減することが必要であり、対処しない場合には、培養容器の蓋を外した際に培養容器内に塵埃等が混入する不都合が考えられる。

通常、このように清浄度が必要とされる空間は、フィルタ等の空気清浄装置を設置したクリーンルーム内に形成される。

#### 【0006】

しかしながら、このようなクリーンルーム内において培養容器に対する種々の処理を行う場合においても、クリーンルームの扉が開放されるなどの何らかの原因によって、空気清浄装置の浄化能力を超えて、クリーンルーム内に浮遊する塵埃が増大する場合には、培養容器内への塵埃の混入を回避できないという問題がある。

#### 【0007】

この発明は上述した事情に鑑みてなされたものであって、培養容器内への塵埃等の混入を十分に低減可能な培養処理装置および自動培養装置を提供することを目的としている。

#### 【0008】

##### 【課題を解決するための手段】

上記目的を達成するために、この発明は、以下の手段を提供する。

請求項1に係る発明は、外部から区画された空間内において、開閉可能な培養容器内に収容された細胞に対し所定の処理を施す処理部を備え、前記空間に、該空間内の清浄度を測定する清浄度センサが配置され、該清浄度センサにより測定された清浄度が所定の清浄度を満たしていない場合に、前記空間内における前記培養容器の開放を禁止するよう前記処理部を制御する制御手段を備える培養処理装置を提供する。

#### 【0009】

この発明によれば、処理部の作動により培養容器内の細胞に対して所定の処理が行われる間に、清浄度センサによって測定された清浄度が所定の清浄度を満たしていない場合には、制御手段の作動により、空間内における培養容器の開放が禁止される。その結果、塵埃等が多く浮遊する環境下において培養容器が開放されることが防止され、細胞への塵埃等の混入が低減されることになる。

## 【0010】

請求項2に係る発明は、外部から区画された空間内において、開閉可能な培養容器内に收容された細胞に対し所定の処理を施す処理部を備え、前記空間に、該空間内の清浄度を測定する清浄度センサが配置され、前記培養容器が開放されている状態で、前記清浄度センサにより測定された清浄度が所定の清浄度を満たしていない場合に、前記培養容器を閉鎖するよう前記処理部を制御する制御手段を備える培養処理装置を提供する。

## 【0011】

この発明によれば、清浄度センサにより測定された清浄度が所定の清浄度を満たしていない場合に、制御手段の作動により、培養容器を閉鎖するよう処理部が制御されるので、塵埃等が多く浮遊する環境下において培養容器が長期間にわたり開放状態に配されることが防止され、細胞への塵埃等の混入が低減されることになる。

## 【0012】

請求項3に係る発明は、請求項1または請求項2に記載の培養処理装置において、前記清浄度センサにより測定された清浄度が所定の清浄度を満たしていない場合に、これを報知する報知手段を備える培養処理装置を提供する。

この発明によれば、報知手段の作動により、培養容器が配されている空間内の清浄度が低下したことが報知されるので、外部のオペレータがその事実を認識し、適切な措置を早期に執ることが可能となる。

## 【0013】

請求項4に係る発明は、請求項1から請求項3のいずれかに記載の培養処理装置において、前記清浄度センサが、前記空間内に間隔をあけて複数配置されている培養処理装置を提供する。

この発明によれば、複数箇所の配置されている清浄度センサの作動により、浮遊する塵埃が局所的に増加した場合においても、迅速に対応することが可能となる。

## 【0014】

請求項5に係る発明は、請求項1から請求項4のいずれかに記載の培養処理装



置において、前記清浄度センサが、前記培養容器の通過する位置近傍に配置されている培養処理装置を提供する。

この発明によれば、培養容器の通過位置近傍に配置された清浄度センサの作動により、その清浄度センサにより清浄度が所定の清浄度を満たす空間に培養容器を通過させることが可能となる。

#### 【0015】

請求項6に係る発明は、請求項5に記載の培養処理装置において、前記清浄度センサが、前記培養容器を搭載する載置台に配置されている培養処理装置を提供する。

この発明によれば、培養容器を搭載する載置台に設けた清浄度センサの作動により、培養容器近傍の空間の清浄度が常時監視される。その結果、培養容器が清浄度の低い雰囲気中に晒されることが防止される。

#### 【0016】

請求項7に係る発明は、請求項1から請求項6のいずれかに記載の培養処理装置において、前記清浄度センサにより測定された清浄度を表示する表示手段を備える培養処理装置を提供する。

この発明によれば、表示手段の作動により、培養容器が配されている空間内の清浄度が表示されるので、空間内の空気が清浄か否かを容易に確認することが可能となる。

#### 【0017】

請求項8に係る発明は、請求項1から請求項7のいずれか1項に記載の培養処理装置と、細胞を収容した培養容器を出し入れ可能に収容し、所定の培養条件を維持しつつ細胞を培養する培養室と、これらの間で培養容器を搬送する搬送機構とを備える自動培養装置を提供する。

この発明によれば、培養容器内に収容されている細胞に対して、高い清浄度を維持した空間内において所定の処理を施すことができるとともに、たとえその空間内の清浄度が所定の清浄度を満たさない程度にまで低減した場合においても、培養容器内の細胞が塵埃等に晒される可能性を低減して、健全な状態の細胞を自動的に培養することが可能となる。

## 【0018】

## 【発明の実施の形態】

この発明の実施形態に係る自動培養装置について、図1～図4を参照して説明する。

本実施形態に係る自動培養装置1は、外部から観察可能な透明な壁材により密閉され、シャッタ2を介して相互に連絡する第1空間S1と第2空間S2とを備えている。

## 【0019】

第1空間S1の両側空間S11, S13には、培養容器3を収容する培養室4が2個ずつ計4個配置され、中央空間S12には、培養容器3を移動するための搬送ロボット（搬送機構）5が備えられている。中央空間S12の上部には、中央空間S12内の空気を浄化するために清浄な下降空気流を送る空気清浄部6が設けられている。

4個の培養室4は、それぞれ中央空間S12に向けて扉4aを配置することにより、横に並んだ2個ずつが相互に扉4aを対向させて、間隔をあけて配置されている。

## 【0020】

前記各培養室4は、図2および図3に示されるように、一側面に開口部4bを有し、該開口部4bを開閉可能な扉4aを備えている。開口部4bに向かって左右の側壁には、対応する高さ位置に複数のレール状のトレイ保持部材4cが設けられており、左右対となる各トレイ保持部材4cに掛け渡すようにして、トレイ7を上下方向に複数段収容できるようになっている。各培養室4内は、所定の培養条件、例えば、温度 $37 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 、湿度100%および $\text{CO}_2$ 濃度5%等に維持されている。なお、トレイ保持部材はレール状に限定されず、トレイを出し入れ可能に支持することができれば任意の形態でよい。

## 【0021】

各トレイ7には、複数個、例えば、10個の培養容器3を並べて載置できるようになっている。各培養容器3は、図4に示されるように、容器本体3aと、該容器本体3aの上面に設けられた蓋体3bとからなり、容器本体3aの左右の側

面には、後述する第2空間内のハンドにより引かけられる突起3cが設けられている。

#### 【0022】

各培養室4の下方には、未使用の培養容器3をトレイ7に搭載した状態で複数収容するストッカ8が配置されている。ストッカ8は、前記培養室4の扉とは反対側の第1空間S1の外部に向かう側面に開閉可能なドア8aを有している。該ドア8aは、ストッカ8の一側面全体を開放する大きさに形成されている。

#### 【0023】

前記搬送ロボット5は、4個の培養室4の間隔位置のほぼ中央に配置されている。該搬送ロボット5は、水平回転可能な第1アーム5aと、該第1アーム5aの先端に鉛直軸回りに回転可能に連結された第2アーム5bと、該第2アーム5bの先端に鉛直軸回りに回転可能に取り付けられ、それ自身は駆動部、伝導機構などの培養室内の環境を劣化させる機構を持たないハンド5cと、これら第1アーム5a、第2アーム5bおよびハンド5cを昇降可能な昇降機構5dとを備えている。これにより、搬送ロボット5は、4個の培養室4内の全てのトレイ7にアクセスするとともに、前記シャッタ2を跨いで第1空間S1と第2空間S2との間に配置されたコンベア9上にトレイ7を引き渡すことができる水平方向の動作範囲を有している。

#### 【0024】

前記コンベア9は、搬送ロボット5のハンド5cの幅寸法より大きな間隔をあけて左右に配置された2本の無端ベルト9aを備え、これら無端ベルト9aに掛け渡してトレイ7を載置できるようになっている。また、搬送ロボット5は、培養室4内の全てのトレイ7にアクセスするとともに、前記ストッカ8内の少なくとも最上段のトレイ7にアクセスできる垂直方向の動作範囲を有している。

なお、ベルト9aは無端ベルトに限られない。

#### 【0025】

前記ハンド5cは、トレイを載置可能に水平方向に伸びる平坦な形状に形成されており、培養室4に収容されているトレイ7間の隙間に挿入可能な厚さ寸法に形成されている。そして、ハンド5cは、トレイ7間の隙間に挿入された状態か

ら上昇させられることにより、2本の腕によってトレイ7を下方から押し上げてトレイ保持部材4cから取り上げるとともに、トレイ7を安定して保持できるようになっている。

#### 【0026】

前記第2空間S2には、培養処理装置30が構成されている。この培養処理装置30は、シャッタ2が開かれた状態で第1空間S1からコンベア9によって搬送されてきたトレイ7上の培養容器3を取り扱うハンドリングロボット（処理部）10と、培養容器3内の培地から細胞を分離する遠心分離機11と、血清や試薬等の種々の液体を分注するための電動ピペット12を備えた水平回転および昇降移動可能な2台の分注ロボット13と、これら分注ロボット13の電動ピペット12先端に取り付ける使い捨て可能なチップ14を複数収容して分注ロボット13の動作範囲内に提供可能な3台のチップ供給装置15と、使用済みのチップ14を廃棄回収するチップ回収部（図示略）と、血清や試薬等の種々の液体を複数の容器に貯留する試薬等供給装置16と、培養容器3内における細胞の様子を観察可能な顕微鏡17と、各試薬および培地交換等により廃棄される廃液をそれぞれ貯留する複数の貯留タンク18と、前記コンベア9と各ロボット10、13との間で培養容器3を受け渡し可能とするように培養容器3を移動させる水平移動機構19と、該水平移動機構19のスライダ20に取り付けられ、受け取った培養容器3を載置して振動を加えるシェーカ21とを備えている。

なお、第2空間S2にも、該第2空間S2内の空気を浄化するために清浄な下降気流を送る空気清浄部（図示略）が設けられている。

#### 【0027】

前記ハンドリングロボット10は、培養容器3を取り扱う把持ハンド10aを水平移動および昇降移動させる水平多関節型ロボットである。例えば、図1に示す例では、相互に連結された3つの水平アーム10b、10c、10dと、これら水平アーム10b～10dを昇降させる昇降機構10eとを備えている。また、水平アーム10b～10dの先端には、培養容器3を把持する把持ハンド10aの他に、培養容器3内から細胞や培地を出し入れするチップ14を着脱可能な電動ピペット（図示略）と、培養容器3の蓋体3bを引っかけて開閉する蓋体3

b 開閉ハンド（図示略）とが備えられている。

#### 【0028】

ハンドリングロボット10は、コンベア9で搬送されてきたトレイ7上の培養容器3の蓋体3bを開閉し、培養容器3を把持して搬送することによりシェーカ21および顕微鏡17に供給し、電動ピペット先端のチップ14を交換し、培養容器3内から取り出した細胞入り培地を遠心分離機11に投入するようになっている。したがって、ハンドリングロボット10は、コンベア9、シェーカ21、顕微鏡17、チップ供給装置15、チップ回収部（図示略）および遠心分離機11等の種々の装置をその動作範囲内に配置している。

#### 【0029】

前記遠心分離機11は、ハンドリングロボット10から供給された細胞入り培地を低速回転させることにより培地内に浮遊していた比重の重い細胞を培地から分離して沈下させるようになっている。

#### 【0030】

前記分注ロボット13は、先端にチップ14を着脱可能に取り付ける電動ピペット12を備えた水平回転可能なアーム13aと、該アーム13aを昇降させる昇降機構13bとを備えている。分注ロボット13は、水平移動機構19によって搬送されて来た培養容器3内へ、培地や種々の試薬を供給するようになっている。したがって、分注ロボット13は、水平移動機構19上のシェーカ21、チップ供給装置15、チップ回収部および試薬等供給装置16等の種々の装置をその動作範囲内に配置している。

#### 【0031】

前記チップ供給装置15は、上方に開口した容器15a内に、電動ピペット12への取付口を上向きにして複数のチップ14を配列状態に収容しており、ハンドリングロボット10や分注ロボット13が、新たなチップ14を必要とするときに、電動ピペット12を上方から挿入するだけで、電動ピペット12の先端にチップ14を取り付けるように構成されている。容器15aは、ハンドリングロボット10や分注ロボット13の動作範囲と、蓋体15bとの間で往復移動させられるように移動機構15cに取り付けられており、チップ14の交換が不要な

ときには、チップ 14 への塵埃等の付着を防止するために、移動機構 15 c を作動させて蓋体 15 b の下方に配置されるようになっている。

#### 【0032】

前記チップ回収装置は、回収容器の入口に、チップ 14 を把持する把持装置を備えていて、ハンドリングロボット 10 や分注ロボット 13 において使用されたチップ 14 が把持装置に挿入されると、これを把持するようになっている。そして、この状態でハンドリングロボット 10 や分注ロボット 13 が電動ピペット 12 を移動させることにより、電動ピペット 12 先端から使用済みチップ 14 が取り外され、回収容器内に回収されるようになっている。

#### 【0033】

前記試薬等供給装置 16 は、例えば、図 1 に示されるように、円筒状のケーシング内部に、水平回転可能なテーブル 16 a を收容し、該テーブル 16 a 上に、扇型の底面形状を有する筒状の試薬等容器 16 b を周方向に複数配列して搭載している。各試薬等容器 16 b には、種々の試薬等が貯留されている。例えば、細胞を培養するために必要な培地を構成する MEM (Minimal Essential Medium: 最小必須培地)、DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium)、FBS (Fetal Bovine Serum: ウシ胎児血清) やヒト血清のような血清、培養容器 3 内の細胞を剥離させるトリプシンのような蛋白質分解酵素や、培養に際して細胞を成長させるサイトカインのような成長因子、細胞を分化させるデキサメタゾンのような分化誘導因子、ペニシリン系抗生物質のような抗生剤、エストロゲン等のホルモン剤や、ビタミン等の栄養剤が貯留されている。

#### 【0034】

試薬等供給装置 16 のケーシングの上面には、分注ロボット 13 が電動ピペット 12 先端のチップ 14 を挿入する挿入口 16 c が設けられている。この挿入口 16 c は、前記分注ロボット 13 の動作範囲内に配置されている。また、各試薬等容器 16 b は、その上面に、前記挿入口 16 c に一致する位置に配置される開口部 (図示略) を備えている。これにより、テーブル 16 a を回転させて試薬等容器 16 b の開口部をケーシングの挿入口 16 c の鉛直下方に配置することで、分注ロボット 13 が、電動ピペット 12 先端のチップ 14 を上方から試薬等容器

16b内へ挿入して、内部に貯留されている試薬等を吸引することができるようになっている。試薬等供給装置16と、分注ロボット13とを2台ずつ設けているのは、検体に共通のトリプシンのような薬液と、検体に固有の血清のような液体とを分離して取り扱うようにしているためである。

#### 【0035】

前記顕微鏡17は、培養工程の途中、あるいは、培地交換の際に、培養容器3内の細胞の様子や増殖の程度を観察したり、細胞数を計数する場合などに使用されるようになっている。顕微鏡17のXYステージや作動距離調整、倍率の変更等は全て遠隔操作により行うことができるように構成されている。第2空間S2の外方に向けて接眼レンズを配置しておくことにより、自動培養装置1の外部から培養容器3内の細胞の状態を目視できるようにしてもよい。

#### 【0036】

前記貯留タンク18は、例えば、全ての検体に共通して使用できるDMEMやPBS（リン酸緩衝食塩水）等を貯留しておき、必要に応じて試薬等供給装置16内の試薬等容器16a内に供給するようになっている。また、貯留タンク18には、廃液タンクとして、培地交換の際に排出される廃培地等を貯留するものもある。

#### 【0037】

前記水平移動機構19は、直線移動機構により水平方向に移動可能なスライダ20を備えている。スライダ20上には前記シェーカ21が搭載されており、シェーカ21に搭載された培養容器3を、コンベア9から分注ロボット13の動作範囲まで移動させることができるようになっている。

#### 【0038】

前記シェーカ21は、コンベア9上のトレイ7内から移載された培養容器3を搭載して保持する保持機構（図示略）を備えるとともに、該培養容器3に振動を付与する加振装置（図示略）を備えている。加振装置は、例えば、培養容器3を所定の角度範囲で往復揺動させる装置である。なお、加振装置として、超音波振動を加える装置や、水平方向の振動を加える装置を採用してもよい。

本実施形態に係る自動培養装置1の各種装置には、制御装置31が接続されて

いる。制御装置 31 は、各工程の順序や動作タイミング等を制御するとともに、動作履歴等を記録保存するようになっている。

#### 【0039】

また、培養処理装置 30 は、第 2 空間 S2 の内部に、複数のパーティクルカウンタ 32 を備えている。パーティクルカウンタ 32 が第 2 空間 S2 内の要所に複数配置されていることにより、第 2 空間 S2 内の特定の位置における局所的な清浄度の低下をも検出することができるようになっている。

#### 【0040】

パーティクルカウンタ 32 は、前記制御装置 31 に接続されている。制御装置 31 には、清浄度のしきい値が記憶されていて、各パーティクルカウンタ 32 によって検出された清浄度と記憶しているしきい値とを比較し、検出された清浄度がしきい値より低い場合には、以下の処理を行うようになっている。例えば、制御装置 31 には、清浄度のしきい値としてクラス 100 が記憶されており、パーティクルカウンタ 32 により検出された清浄度がクラス 100 より低い、例えば、クラス 150 である場合には、以下の処理が行われるようになっている。

#### 【0041】

すなわち、制御装置 31 は、培養処理装置 30 の各種装置の動作を監視しており、例えば、ハンドリングロボット 10 の蓋体 3b 開閉ハンドが、培養容器 3 の蓋体 3b を開いたか否かを監視している。そして、制御装置 31 が培養容器 3 の蓋体 3b が開放されていることを検出しているときに、いずれかのパーティクルカウンタ 32 からの検出信号により、第 2 空間 S2 内のいずれかの位置における清浄度が低下していることを検出した場合には、制御装置 31 は培養容器 3 の蓋体 3b を閉じるプログラムを作動させるようになっている。具体的には、通常のプログラム動作の途中において割り込み動作を作動させ、培養容器 3 の蓋体 3b が閉じられた状態まで動作させて停止するようになっている。

#### 【0042】

なお、制御装置 31 には、各パーティクルカウンタ 32 により検出された第 2 空間 S2 内の清浄度を表示するモニタ 33 が設けられていてもよい。このようなモニタ 33 を設けることにより、第 2 空間 S2 内が清浄な状態か否かを第 2 空間



S 2 の外部において容易に確認することが可能となる。

#### 【0043】

このように構成された本実施形態に係る培養処理装置 30 および自動培養装置 1 の作用について、以下に説明する。

本実施形態に係る自動培養装置 1 を用いて、細胞を培養するには、まず、培養処理装置 30 において、患者から採取された骨髓液を遠心分離容器（図示略）に入れた状態で遠心分離機 11 に投入する。この工程は、作業者が行ってもよく、また、ハンドリングロボット 10 に行わせてもよい。これにより、遠心分離機 11 の作動により、骨髓液中から比重の重い骨髓細胞が集められる。

#### 【0044】

集められた骨髓細胞は、ハンドリングロボット 10 により、培養容器 3 に投入される。このとき、コンベア 9 の作動により、トレイ 7 に載せた 10 個の空の培養容器 3 が、第 1 空間 S 1 から第 2 空間 S 2 に差し出されている。ハンドリングロボット 10 は、差し出された培養容器 3 の内の 2 個の蓋体 3 b を開けた後に、把持ハンド 10 a を作動させてこれを把持することにより、シェーカ 21 上に移載する。なお、蓋体 3 b を開けるロボットを別途設けてもよい。これにより処理直前に蓋体 3 b を開けることができ、容器本体 3 a 内に異物が入る確率を低減することができる。

#### 【0045】

チップ供給装置 15 が移動機構 15 c を作動させることにより、未使用のチップ 14 をハンドリングロボット 10 の動作範囲内に配すると、ハンドリングロボット 10 は、チップ供給装置 15 から未使用のチップ 14 を受け取って電動ピペットの先端に取り付ける。

この状態で、ハンドリングロボット 10 を作動させて、電動ピペット先端のチップ 14 を遠心分離機 11 内に集められた骨髓細胞に接触させる。そして、電動ピペットを作動させることにより、チップ 14 内に骨髓細胞を吸引する。吸引された骨髓細胞はハンドリングロボット 10 を作動させることにより、シェーカ 21 上に蓋体 3 b を開けて移載されている培養容器 3 内に投入される。

#### 【0046】

骨髓細胞を培養容器 3 内に投入し終わると、ハンドリングロボット 10 は、チップ回収部までチップ 14 を搬送してチップ 14 を取り外す。また、チップ供給装置 15 は、移動機構 15 c の作動により容器 15 a を蓋体 15 b の下方に配置する。

#### 【0047】

次に、骨髓細胞が投入された培養容器 3 は、水平移動機構 19 を作動させることにより、シェーカ 21 ごと水平移動させられ、各分注ロボット 13 の動作範囲内に配置される。分注ロボット 13 は、チップ供給装置 15 から受け取った未使用のチップ 14 を先端に取り付けた電動ピペット 12 を作動させることにより、試薬等供給装置 16 の試薬等容器 16 b 内から DMEM や血清、あるいは各種試薬を適量吸引した後に、培養容器 3 の上方まで搬送して培養容器 3 内に注入する。血清や各試薬の吸引は、各試薬等の吸引ごとにチップ供給装置 15 から未使用のチップ 14 に交換して行われる。これにより、培養容器 3 内においては、適正な培地内に骨髓細胞が混合された状態で存在することになる。なお、培地内において骨髓細胞を均一に分布させるために、シェーカ 21 を作動させて、培養容器 3 ごと加振することにしてもよい。そして、全ての処理を終えた培養容器 3 は水平移動機構 19 の作動により、ハンドリングロボット 10 の動作範囲に戻される。ハンドリングロボット 10 は、培養容器本体 3 a に蓋体 3 b を被せた上で、培養容器 3 をトレイ 7 上に戻す。

#### 【0048】

この場合において、本実施形態に係る自動培養装置 1 によれば、図 5 に示されるように、第 2 空間 S2 内に複数配置されたパーティクルカウンタ 32 により、第 2 空間 S2 内の清浄度が常時計数されている（ステップ 1）。そして、いずれかのパーティクルカウンタ 32 により検出された清浄度がクラス 100 より低い場合（ステップ 2）には、制御装置 31 の作動により、培養容器 3 の蓋体 3 b が開かれているか否かが判断される（ステップ 3）。制御装置 31 は、ハンドリングロボット 10 を始めとする各種装置の動作を管理しているので、その動作プログラムの進行状況によって培養容器 3 の蓋体 3 b が開かれているか否かが判断されることになる。

## 【0049】

そして、制御装置31において培養容器3の蓋体3bが開かれていると判断されたときには、動作プログラムを中断し、あるいは、動作プログラムの進行状況によりその終了を待って、培養容器3の蓋体3bを閉じるサブルーチンプログラムに移行する(ステップ4)。サブルーチンプログラムにおいては、ハンドリングロボット10等の作動により培養容器3の蓋体3bを閉じる動作プログラムが実行され、培養容器3の蓋体3bが閉じられる。これにより、第2空間S2内の清浄度がクラス100より低いときには培養容器3の蓋体3bが閉じられるので、培養容器内に塵埃が混入する可能性を低減することが可能となる。

## 【0050】

一方、ステップ2において清浄度がクラス100より高いと判断された場合、および、ステップ3において、培養容器3の蓋体3bが閉じていると判断された場合には、ステップ5において一連の動作プログラムが終了したか否かが判断され、動作プログラムが続行されている間上記処理が繰り返される。

## 【0051】

トレイ7上の全ての培養容器3に対して所定の処理が行われた後に、コンベア9を作動させることにより、トレイ7に載せられた培養容器3が第2空間S2から第1空間S1の中央空間S12内に挿入される。この状態で、搬送ロボット5を作動させることにより、ハンド5cによってトレイ7を持ち上げる。そして、トレイ7を収容する培養室4の前まで搬送したところで、当該培養室4の扉4aを開き、搬送ロボット5によって、空いているトレイ保持部材4c上にトレイ7を挿入する。そして、再度、扉4aを閉じることにより、培養室4内の培養条件を一定に保持して細胞の培養が行われることになる。なお、骨髄細胞投入や、DMEM、血清、各種試薬の投入や吸引の順序は適宜変更してもよいのは言うまでもない。

## 【0052】

また、培地交換や容器交換の際にも、上記と同様にして、培養室4外に配置されている搬送ロボット5の作動により、培養室4内の培養容器3がトレイ7ごと取り出され、第1空間S1から第2空間S2へ受け渡される。第2空間S2では

、培養容器 3 内にトリプシンが注入されて、培養容器 3 内の細胞が剥離させられた状態で、ハンドリングロボット 10 の作動によって遠心分離機 11 内に投入され、間葉系幹細胞等の必要なもののみが集められる。その他の処理工程は上記と同様である。

#### 【0053】

そして、複数回の培地交換や容器交換を介した所定期間にわたる培養工程を行うことにより、間葉系幹細胞が十分な細胞数まで増殖させられることになる。十分な細胞数に達したか否かは、ハンドリングロボット 10 の作動により、間葉系幹細胞が底面に付着した培養容器 3 を顕微鏡 17 まで搬送することにより、観察あるいは測定され、細胞の増殖の程度が判断される。なお、トレイ 7 上には、同一検体の培養容器 3 が載置されていてもよいし、異なる検体の培養容器 3 が混在していてもよい。また、シェーカ 21 上には同一検体の培養容器 3 が載置されてもよいし、異なる検体の培養容器 3 が混在していてもよい。

#### 【0054】

このようにして、本実施形態に係る自動培養装置 1 により、患者から採取した骨髓液から十分な細胞数の間葉系幹細胞を自動的に培養することが可能となる。なお、十分な間葉系幹細胞が得られた後には、培養容器 3 内にリン酸カルシウムのような生体組織補填材およびデキサメタゾンのような分化誘導因子を投入して、再度培養工程を継続することにより、生体の欠損部に補填可能な、生体組織補填体を製造することにもよい。

#### 【0055】

この場合において、本実施形態に係る自動培養装置 1 によれば、培養室 4 内に、培養容器 3 を取り出すための機構部が存在しない。すなわち、培養室 4 内には、トレイ 7 を載置した状態に支持するトレイ支持部材 4c が設けられているのみであり、培養容器 3 を取り出すための機構部は全て培養室 4 外に配置された搬送ロボット 5 に集約されている。そして、搬送ロボット 5 は、トレイ 7 の出し入れ作業が行われた後には、培養室 4 の扉 4a の外側に完全に退避することができるようになっている。

#### 【0056】

したがって、扉 4 a が閉じられた状態では、培養室 4 内に機構部が存在せず、機構部の作動によって発生するような塵埃の発生は全く存在しない。また、培養室 4 内は、温度  $37 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 、湿度 100% および  $\text{CO}_2$  濃度 5% 等に維持されるが、機構部が存在しないために、このような環境下においても、腐食等の問題が生ずることがない。また、扉 4 a が開かれた状態においても、培養室 4 内に挿入されるのは搬送ロボット 5 のハンド 5 c 先端のみであり、実質的に回転機構や摺動機構が培養室 4 内に入ることはない。したがって、培養室 4 内への塵埃の侵入が抑制され、培養室 4 内部の清浄度を高めることができる。

なお、培養室 4 は  $\text{CO}_2$  インキュベータ、マルチガスインキュベータ、インキュベータ、保冷库等のように、培養に利用されるものあるいはその組合せで構成されていてもよい。

#### 【0057】

さらに、本実施形態に係る自動培養装置 1 は、搬送ロボット 5 の設置されている中央空間 S 1 2 の上部に、空気清浄部 6 を備えているので、搬送ロボット 5 の存在する中央空間 S 1 2 内も常に清浄度が維持されている。したがって、培養室 4 の扉 4 a が開かれときにも、培養室 4 内に塵埃が流入することを最小限に抑えることが可能となる。

したがって、本実施形態に係る自動培養装置 1 によれば、培養中の細胞が塵埃等によって汚染される可能性を低減し、健全な細胞を培養することができるという効果がある。

#### 【0058】

なお、この発明は、上記実施形態に示した構成に限定されるものではない。すなわち、培養室 4 の形状や数、搬送ロボット 5、ハンドリングロボット 10 および分注ロボット 13 の形態や数、各種装置の形態や数等は、何ら限定されることなく、適用条件に合わせて任意に設定することができる。

また、成長因子としては、サイトカインの他に、例えば、濃縮血小板、BMP、EGF、FGF、 $\text{TGF-}\beta$ 、IGF、PDGF、VEGF、HGF やこれらを複合させたもの等の成長に寄与する物質を採用することにしてもよい。また、抗生剤としては、ペニシリン系抗生物質の他、セフェム系、マクロライド系、テ

トラサイクリン系、ホスホマイシン系、アミノグリコシド系、ニューキノロン系等任意の抗生物質を採用することができる。

#### 【0059】

なお、本実施形態に係る自動培養装置1は、骨髓の間葉系幹細胞の培養に限定されるものではない。生体の種々の組織から採取された細胞や、樹立された細胞ラインを培養してもよい。

また、生体組織補填材としては、リン酸カルシウムに代えて、生体組織に親和性のある材料であれば任意のものでよく、生体吸収性の材料であればさらに好ましい。特に、生体適合性を有する多孔性のセラミックスや、コラーゲン、ポリ乳酸、ポリグリコール酸、ヒアルロン酸、またはこれらの組合せを用いてもよい。また、チタンの様な金属であってもよい。また、生体組織補填材は、顆粒状でもブロック状でもよい。

#### 【0060】

また、上記実施形態においては、パーティクルカウンタ32により第2空間S2内の清浄度がしきい値より低いことが判断されたときに、培養容器3の蓋体3bの開閉状態を確認し、蓋体3bを閉じるよう制御装置31が作動することとしたが、これに代えて、培養容器3の蓋体3bが開かれているときのみにパーティクルカウンタ32による清浄度の確認を行うことにしてもよい。また、パーティクルカウンタ32により検出された清浄度がしきい値より低いことが判断されたときに、培養容器3の蓋体3bが閉じられていた場合には、次に蓋体3bが開かれる手前において動作プログラムを停止させることにしてもよい。また、培養容器3の蓋体3bに限られず、第2空間S2内の清浄度が低いときに、チップ供給装置15の容器15aを蓋体15bの下方に移動させ、あるいは、試薬等供給装置16の試薬等容器16bを挿入口16cの下方から退避させることにしてもよい。

#### 【0061】

また、パーティクルカウンタ32は、第2空間S2内の清浄度を検出できる位置であれば任意の位置に配置してよいが、特に、培養容器3の付近の清浄度を検出するためには、培養容器3の通過する経路近傍に配置されていることが好まし

い。また、培養容器 3 を載置するシェーカ 21 上に配置されていれば、さらに好ましい。

#### 【0062】

#### 【発明の効果】

以上説明したように、この発明に係る培養処理装置および自動培養装置によれば、培養容器内への塵埃等の混入を効果的に低減し、細胞の汚染を防止して、健全な細胞を自動的に培養することができるという効果を奏する。

#### 【図面の簡単な説明】

【図 1】 この発明の一実施形態に係る培養処理装置および自動培養装置を示す斜視図である。

【図 2】 図 1 の自動培養装置の第 1 空間を概略的に示す縦断面図である。

【図 3】 図 1 の自動培養装置の第 1 空間を概略的に示す平面図である。

【図 4】 図 1 の自動培養装置において用いられる培養容器の一例を示す斜視図である。

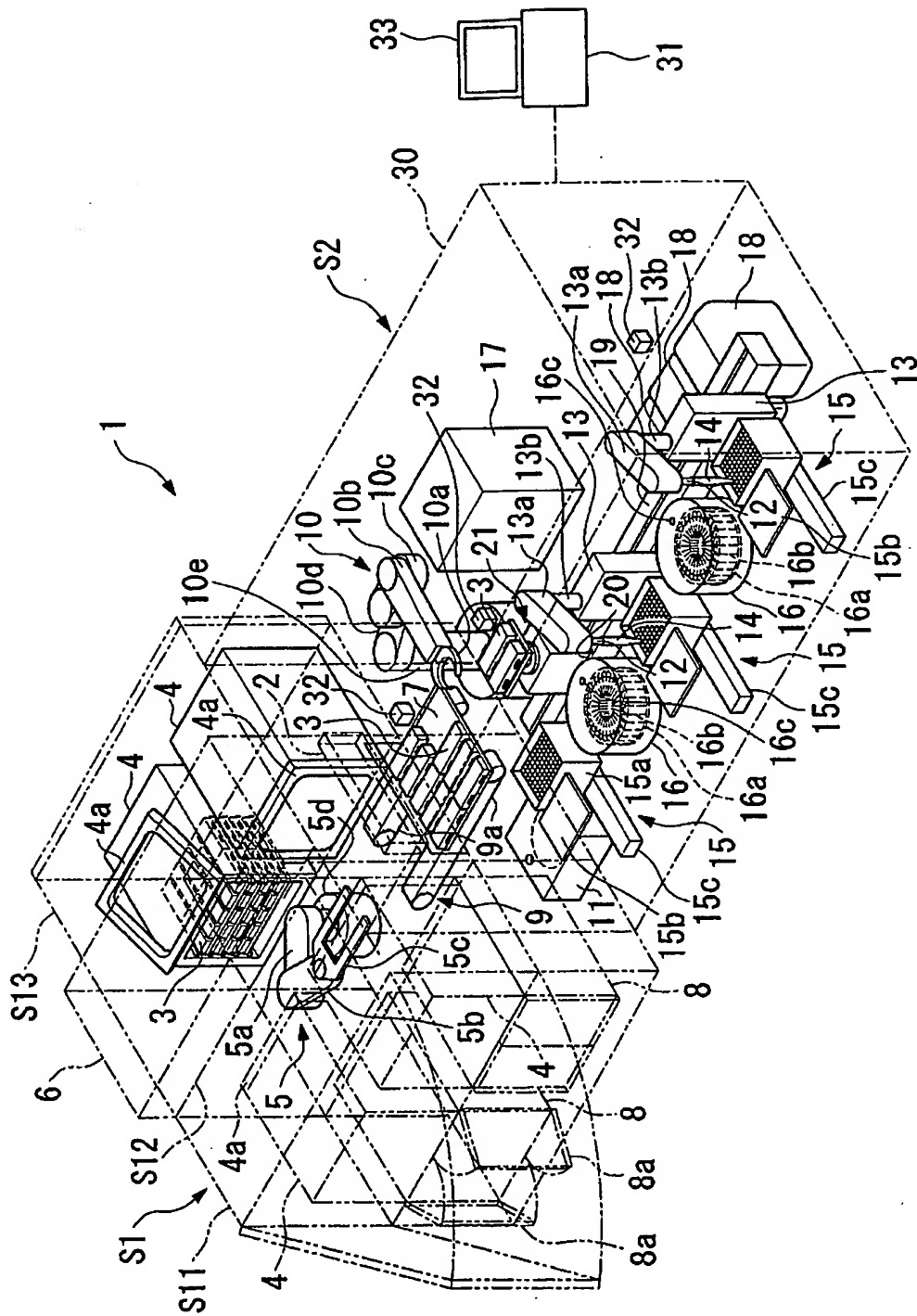
【図 5】 図 1 の培養処理装置の動作を説明するフローチャートである。

#### 【符号の説明】

- 1 自動培養装置
- 3 培養容器
- 4 培養室
- 5 搬送ロボット（搬送機構）
- 9 コンベア（搬送機構）
- 10 ハンドリングロボット（処理部）
- 30 培養処理装置
- 31 制御装置
- 32 パーティクルカウンタ（清浄度センサ）
- 33 モニタ（表示手段）
- S2 第 2 空間（空間）

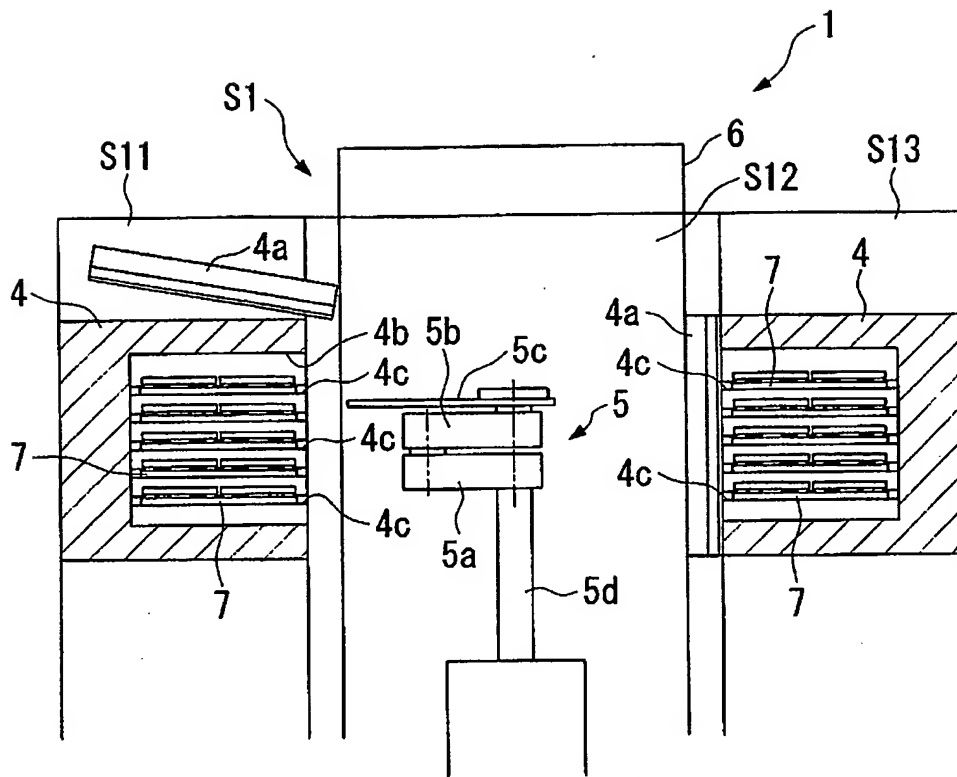
【書類名】 図面

【図 1】

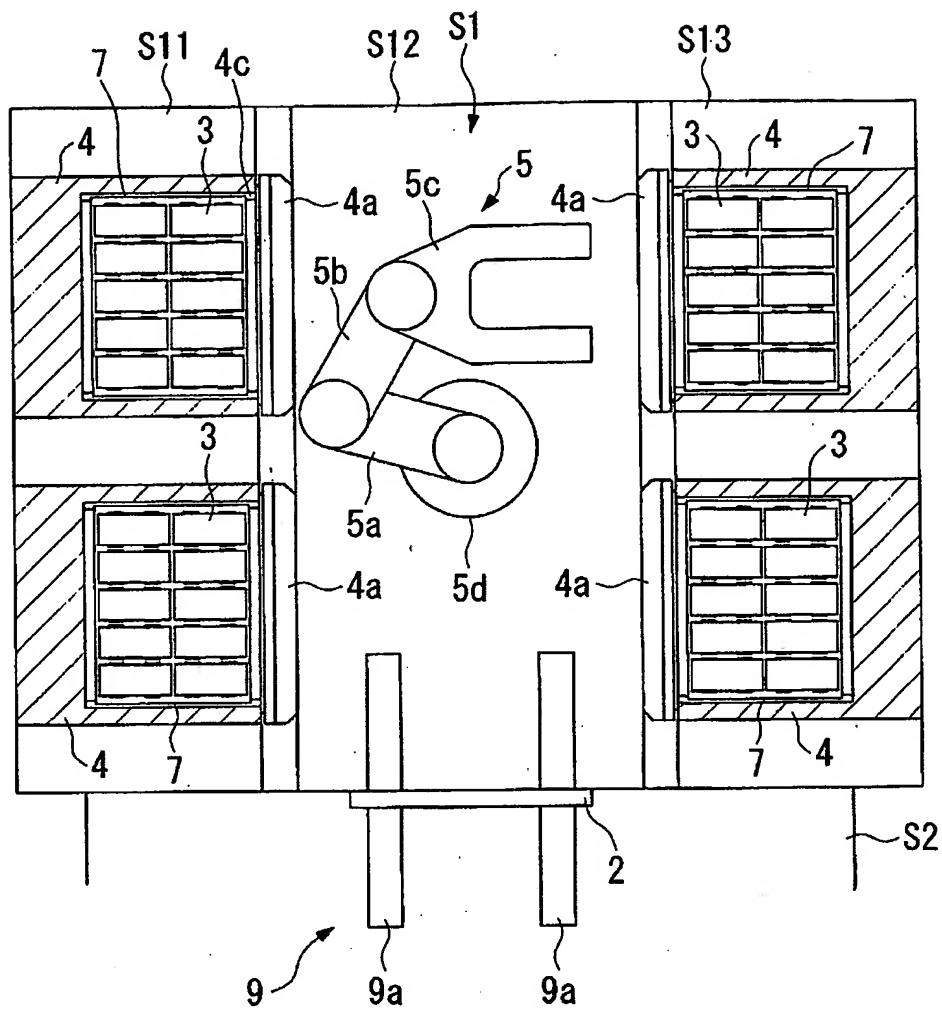




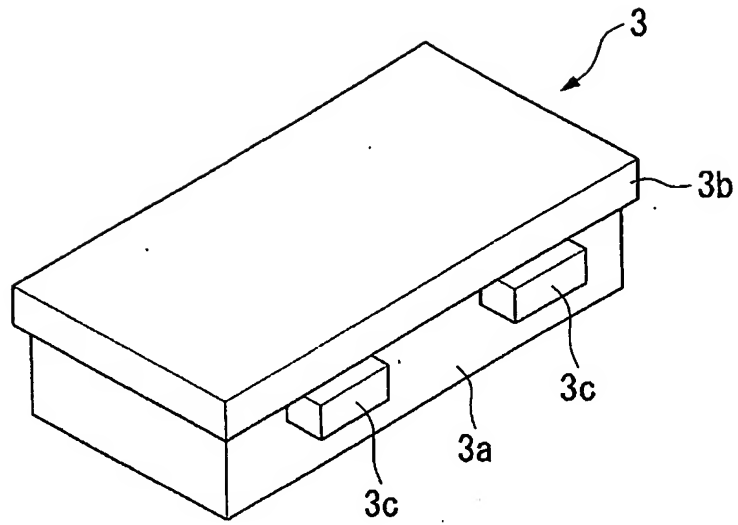
【図 2】



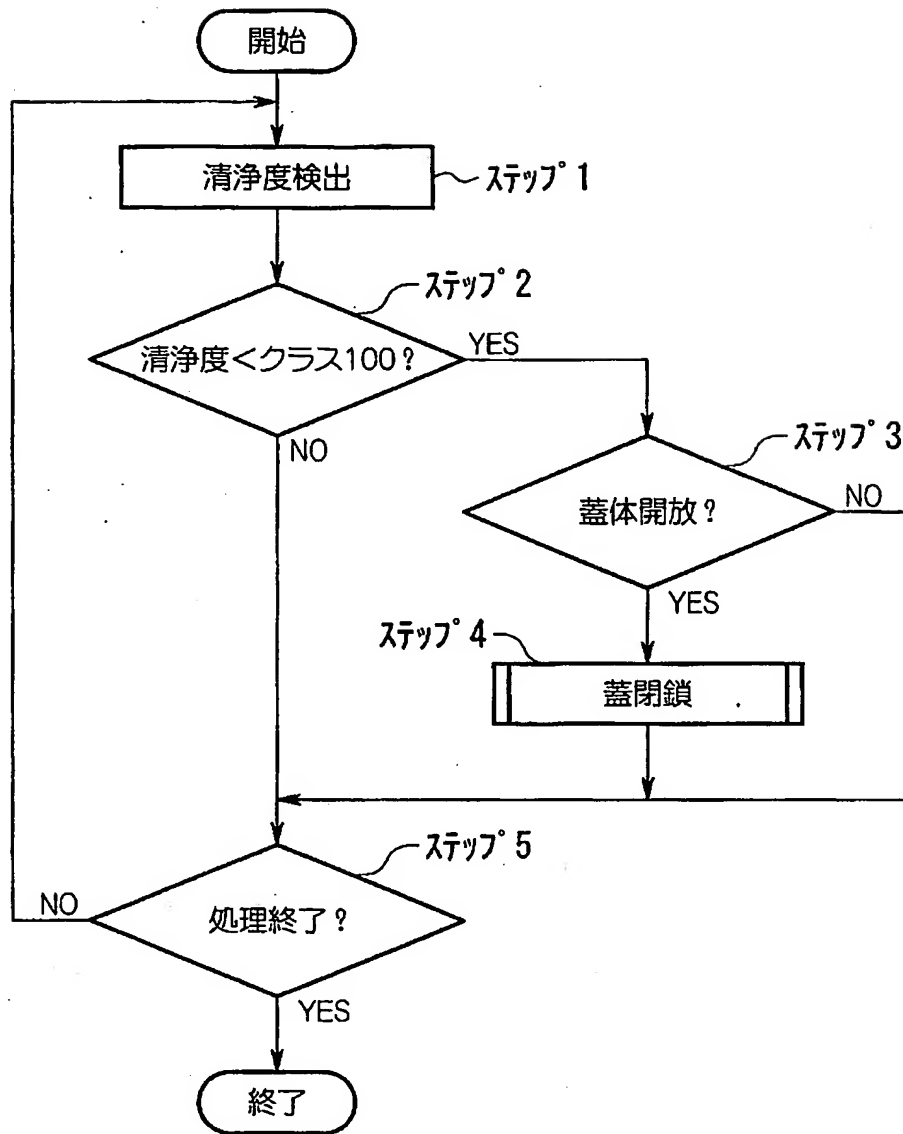
【図3】



【図 4】



【図 5】



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 培養容器内への塵埃等の混入を効果的に低減する。

【解決手段】 外部から区画された空間 S 2 において、開閉可能な培養容器 3 内に収容された細胞に対し所定の処理を施す処理部 10 を備え、前記空間 S 2 に、該空間 S 2 内の清浄度を測定する清浄度センサ 32 が配置され、該清浄度センサ 32 により測定された清浄度が所定の清浄度を満たしていない場合に、空間 S 2 内における培養容器 3 の開放を禁止するよう処理部 10 を制御する制御手段 31 を備える培養処理装置 30 を提供する。

【選択図】 図 1

## 認定・付加情報

特許出願の番号	特願 2003-154735
受付番号	50300906273
書類名	特許願
担当官	植田 晴穂 6992
作成日	平成15年 6月 9日

## &lt;認定情報・付加情報&gt;

## 【特許出願人】

【識別番号】	000000376
【住所又は居所】	東京都渋谷区幡ヶ谷2丁目43番2号
【氏名又は名称】	オリンパス光学工業株式会社

## 【代理人】

申請人

【識別番号】	100106909
【住所又は居所】	東京都新宿区高田馬場3-23-3 ORビル
【氏名又は名称】	棚井 澄雄

## 【代理人】

【識別番号】	100064908
【住所又は居所】	東京都新宿区高田馬場3丁目23番3号 ORビル 志賀国際特許事務所
【氏名又は名称】	志賀 正武

## 【選任した代理人】

【識別番号】	100101465
【住所又は居所】	東京都新宿区高田馬場3丁目23番3号 ORビル 志賀国際特許事務所
【氏名又は名称】	青山 正和

## 【選任した代理人】

【識別番号】	100094400
【住所又は居所】	東京都新宿区高田馬場3丁目23番3号 ORビル 志賀国際特許事務所
【氏名又は名称】	鈴木 三義

## 【選任した代理人】

【識別番号】	100086379
【住所又は居所】	東京都新宿区高田馬場3丁目23番3号 ORビル 志賀国際特許事務所
【氏名又は名称】	高柴 忠夫

次頁有

認定・付加情報 (続き)

【選任した代理人】

【識別番号】

100118913

【住所又は居所】

東京都新宿区高田馬場3丁目23番3号・ORビ  
ル志賀国際特許事務所

【氏名又は名称】

上田 邦生

次頁無

特願 2003-154735

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号

[000000376]

1. 変更年月日

1990年 8月20日

[変更理由]

新規登録

住 所

東京都渋谷区幡ヶ谷2丁目43番2号

氏 名

オリンパス光学工業株式会社

2. 変更年月日

2003年10月 1日

[変更理由]

名称変更

住 所

東京都渋谷区幡ヶ谷2丁目43番2号

氏 名

オリンパス株式会社



**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

**BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ **BLACK BORDERS**
- ☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☐ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- ☒ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☒ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☒ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER:** \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**